

Dietary components and cardiovascular risk markers : effects of tocotrienols, beta-glucan and plant stanol esters

Citation for published version (APA):

Kerckhoffs, D. A. J. M. (2003). *Dietary components and cardiovascular risk markers : effects of tocotrienols, beta-glucan and plant stanol esters*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20030321dk>

Document status and date:

Published: 01/01/2003

DOI:

[10.26481/dis.20030321dk](https://doi.org/10.26481/dis.20030321dk)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

The composition of the diet may play an important role in lowering the risk of coronary heart disease (CHD), for instance by improving an unfavorable serum lipoprotein profile. Therefore, much interest has not only been given to general dietary advices, but also to the role of specific foods and food components in the control of lipid and lipoprotein metabolism. Also plasma concentrations of antioxidants are related with cardiovascular risk. An early event in the development of CHD is the formation of oxidized LDL in the intima of vessel walls, which may ultimately lead to the development of an atherosclerotic plaque. Antioxidants that prevent LDL oxidation may therefore protect against CHD. Also C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6), two markers of ongoing inflammation, are significant predictors of the risk of future cardiovascular events. As atherosclerosis is considered as a chronic inflammatory disease, this may suggest that decreasing atherosclerotic risk goes together with lower plasma CRP and IL-6 concentrations.

This thesis describes the effects of the dietary components, tocotrienols, β -glucan and plant stanol esters on various cardiovascular risk markers in subjects with increased serum cholesterol concentrations. For comparison with a lipid-lowering drug, effects of pravastatin were also studied.

Serum lipids and lipoproteins

Vitamin E is the generic term for the four subtypes (α , β , γ and δ) of tocopherols and corresponding tocotrienols. Unlike tocopherols, tocotrienols have been suggested to lower serum LDL cholesterol concentrations, possibly by reducing the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase, the rate-limiting enzyme in the endogenous cholesterol synthesis. It has been suggested that especially tocotrienols from rice bran oil have a strong cholesterol-lowering activity. In our first study with 71 hypercholesterolemic volunteers consuming a cholesterol-lowering diet, however, we have demonstrated that the daily intake of 42 mg of a tocotrienol-rich fraction from rice bran oil (TRF-RBO) for 6 weeks had no beneficial effects on the serum lipoprotein profile. Furthermore, no changes were found in serum cholesterol-standardized concentrations of lathosterol, which reflect endogenous cholesterol synthesis, and in those of campesterol, which reflect intestinal cholesterol absorption. On the other hand, the daily use of 40 mg of pravastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, lowered serum LDL cholesterol concentrations by 32%. Pravastatin also decreased cholesterol-standardized lathosterol concentrations by 44%, but increased cholesterol-standardized

campesterol by 16%. Based on these results, it is concluded that TRF-RBO supplementation does not favorably affect cholesterol metabolism in hypercholesterolemic subjects.

Dietary fibers can be classified into two groups based on water solubility. In contrast to water-insoluble fibers, most soluble fibers lower serum LDL cholesterol concentrations. A rich source of soluble fiber is oats. It has been demonstrated that the cholesterol-lowering effect of oats can be ascribed to the water-soluble fiber, β -glucan. The U.S. Food and Drug Administration (FDA) has concluded that at least 3 g of β -glucan from oats should be consumed daily to achieve a clinically relevant decrease in serum total cholesterol concentrations. Since compliance with this dietary guideline may increase when common food products rich in oat β -glucan are available, the second intervention trial examined the effects of bread and cookies enriched with β -glucan from oat bran on serum lipids and lipoproteins in 48 mildly hypercholesterolemic volunteers. It was shown that a mean daily intake for 4 weeks of 5.9 g of β -glucan from oat bran incorporated into bread and cookies had no statistically significant effects on the serum lipoprotein profile. To investigate the potential effects of food processing and the food matrix, in our third study the same source and daily amounts of wheat fiber (control fiber) and oat bran as in our second study was provided with orange juice. We found that the daily intake of 5 g of β -glucan from oat bran with a drink for two weeks lowered serum total cholesterol and LDL cholesterol concentrations and the total to HDL cholesterol ratio in 25 subjects by 4, 7 and 5%, respectively. Based on these findings, it is suggested that the food matrix and/or food processing may have detrimental effects on the cholesterol-lowering activity of oat β -glucan.

Plasma lipid-soluble antioxidants

There is some concern on the decreases in plasma antioxidants after consumption of plant stanol esters. Little is known, however, about the effects of other cholesterol-lowering agents, such as oat β -glucan and pravastatin. Therefore, plasma lipid-soluble antioxidants were examined not only in our third study with oat β -glucan, and also in a trial with 48 subjects in which plant stanol esters were consumed for 4 weeks, as well as in volunteers of our first study who received either placebo or pravastatin treatment. In subjects with increased serum cholesterol concentrations, we have now demonstrated that absolute plasma concentrations of the tocopherols (α -tocopherol, β + γ -tocopherol and δ -tocopherol) were lowered by a daily intake of 2 g of plant stanols - which were provided as its fatty acid esters - and oat β -glucan. The hydrocarbon carotenoids (lycopene, α -carotene and β -carotene) were also

lowered by oat β -glucan (5 g/d) provided with orange juice, even after these antioxidants were corrected for serum concentrations of total cholesterol plus triacylglycerols. After lipid-standardization, plant stanols had only small and statistically nonsignificant effects on plasma lipid-soluble antioxidant concentrations. After treatment with pravastatin (40 mg/d), absolute plasma concentrations of the tocopherols, oxygenated carotenoids (lutein and β -cryptoxanthin) and hydrocarbon carotenoids decreased. After lipid-standardization, however, the tocopherols increased.

Hemostatic and inflammatory parameters

In our first intervention trial, it was shown that TRF-RBO as well as pravastatin had no effect on thromboxane B₂ (TxB₂) production in clotting blood, von Willebrand Factor (vWF) and factor VII coagulant (factor VIIc) activities, and activated factor VII (factor VIIa) and fibrinogen concentrations in hypercholesterolemic subjects.

With regard to inflammatory parameters as cardiovascular risk markers, we examined the effects of plant stanol esters and pravastatin on circulating concentrations of C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6). As these markers of ongoing inflammation may reflect the severity of the atherosclerotic process, we hypothesized that cholesterol lowering by plant stanol esters or pravastatin may lower circulating concentrations of CRP and IL-6. In our first study with subjects who received either placebo or pravastatin treatment and in the study with plant stanol esters, however, it was found that daily intakes of 2 g plant stanols for 4 weeks or 40 mg of pravastatin for 6 weeks did not affect CRP and IL-6 concentrations in mildly and hypercholesterolemic volunteers, despite significant reductions in serum LDL cholesterol concentrations of 8 and 32%, respectively. Furthermore, in the subjects of these studies cross-sectional relationships were examined between concentrations of inflammation markers and plasma lipid-soluble antioxidants. For this, three multiple regression models were used to study the relations of CRP or IL-6 with, respectively, the tocopherols, oxygenated carotenoids and hydrocarbon carotenoids. After adjustment for serum concentrations of LDL cholesterol, HDL cholesterol and triacylglycerol, it was found that none of the plasma tocopherols or carotenoids was significantly related to serum CRP concentrations. However, an inverse relation between the hydrocarbon carotenoids and IL-6 was observed, whereas the oxygenated carotenoids and the tocopherols were not related with IL-6. We also found that triacylglycerol was positively associated with CRP and that HDL cholesterol was inversely related with IL-6.

Main conclusions

This thesis shows that a tocotrienol-rich fraction from rice bran oil does not favorably affect cholesterol metabolism or hemostatic parameters in hypercholesterolemic subjects. Oat β -glucan has been shown to have a cholesterol-lowering effect in mildly hypercholesterolemic volunteers when provided with a drink but not when incorporated into bread and cookies. The food matrix and/or food processing may therefore have detrimental effects on the hypocholesterolemic activity of oat β -glucan. To better understand these differential effects, it is necessary to further clarify the cholesterol-lowering mechanism of action of oat β -glucan. Of the lipid-soluble antioxidants investigated, lipid-standardized hydrocarbon carotenoids were only lowered after relatively high intakes of oat β -glucan (5 g/d) provided with a drink, while plant stanols at daily intakes of about 2 g had only small effects on lipid-standardized plasma antioxidants in subjects with increased cholesterol concentrations. Whether our results can be extrapolated to lower intakes or to other oat β -glucan-containing foods needs to be elucidated. For CRP and IL-6 as cardiovascular risk markers, these circulating inflammation parameters were not affected after short-term consumption of plant stanol esters or after pravastatin treatment in mildly and hypercholesterolemic subjects, despite decreases in serum LDL cholesterol concentrations. It remains to be determined whether long-term treatment affects circulating CRP and IL-6 concentrations.

Samenvatting

De samenstelling van de voeding kan een belangrijke rol spelen bij het verlagen van het risico op hart- en vaatziekten (HVZ), onder andere door verbetering van een ongunstig lipoproteïnenprofiel. Vandaar dat er niet alleen veel aandacht wordt besteed aan algemene voedingsadviezen, maar ook aan specifieke voedingsmiddelen en voedingscomponenten die het lipiden- en lipoproteïnenmetabolisme beïnvloeden. Tevens zijn concentraties van antioxidanten in het plasma geassocieerd met het risico op HVZ. Een vroege gebeurtenis in de ontwikkeling van HVZ is de vorming van geoxideerd LDL in de vaatwand, hetgeen uiteindelijk kan leiden tot de ontwikkeling van een atherosclerotische plaque. Antioxidanten die LDL oxidatie voorkomen, kunnen dus van belang zijn bij de bescherming tegen HVZ. Verder zijn C-reactief proteïne (CRP) en interleukine-6 (IL-6), twee markers voor ontsteking, significante voorspellers van het krijgen van cardiovasculaire aandoeningen. Aangezien atherosclerose wordt gezien als een chronische ontsteking van de vaatwand, suggereert dit dat een verlaging in atherosclerotisch risico samengaat met lagere CRP en IL-6 concentraties.

Dit proefschrift beschrijft de effecten van de voedingscomponenten, tocotriënolen, β -glucan en plantaardige stanolesters op diverse risicoindicatoren voor hart- en vaatziekten bij proefpersonen met een verhoogd cholesterolgehalte in het bloed. Om een vergelijking te maken met een lipidenverlagend geneesmiddel, werden de effecten van pravastatine eveneens bestudeerd.

Serum lipiden en lipoproteïnen

Vitamine E is de algemene term voor de vier vormen (α , β , γ en δ) van tocoferolen en tocotriënolen. In tegenstelling tot tocoferolen werd gesuggereerd dat tocotriënolen het LDL cholesterolgehalte verlagen, mogelijk door verlaging van de activiteit van 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coënzym A (HMG-CoA) reductase. Dit is het snelheidsbepalende enzym voor de cholesterolsynthese in het lichaam. Het is gesuggereerd dat vooral tocotriënolen afkomstig uit rijstzemelenolie een sterke cholesterolverlagende werking hebben. In onze eerste studie, waaraan 71 vrijwilligers met hypercholesterolemie deelnamen die een cholesterolverlagend dieet volgden, hebben wij echter aangetoond dat de dagelijkse inname van 42 mg van een tocotriënolen-rijke fractie uit rijstzemelenolie (TRF-RBO) gedurende 6 weken geen gunstig effect had op het lipoproteïnenprofiel. Bovendien werden geen veranderingen gevonden in serum cholesterolgestandaardiseerde concentraties van lathosterol (indicator voor de cholesterolsynthese in het lichaam) en campesterol (indicator voor

cholesterolabsorptie). Daarentegen bleek dat een dagelijks gebruik van 40 mg pravastatine, een HMG-CoA reductase-remmer, het LDL cholesterolgehalte verlaagde met 32%. Pravastatine verlaagde eveneens de cholesterolgestandaardiseerde lathosterolconcentraties met 44%, maar verhoogde het cholesterolgestandaardiseerde campesterol met 16%. Op basis van deze resultaten is geconcludeerd dat TRF-RBO-supplementatie geen gunstig effect heeft op het cholesterolmetabolisme bij mensen met hypercholesterolemie.

Voedingsvezels kunnen worden onderverdeeld in twee groepen op basis van hun wateroplosbaarheid. In tegenstelling tot wateronoplosbare vezels verlagen de meeste wateroplosbare vezels LDL cholesterolconcentraties in serum. Haver is rijk aan wateroplosbare vezels. Aangevoerd is dat het cholesterolverlagend effect van haver kan worden toegeschreven aan de wateroplosbare vezel, β -glucan. De 'Food and Drug Administration' (FDA) in de V.S. heeft geconcludeerd dat tenminste 3 g β -glucan afkomstig uit haver dagelijks genuttigd dient te worden om een klinisch relevante daling in serum totaalcholesterolconcentraties te bereiken. Aangezien de dieetrouw met deze voedingsrichtlijn zal toenemen wanneer alledaagse voedingsmiddelen rijk aan β -glucan uit haver beschikbaar zijn, werden in de tweede interventiestudie de effecten bestudeerd van brood en koekjes verrijkt met β -glucan uit haverzemelen op lipiden- en lipoproteïnenconcentraties bij 48 vrijwilligers met matige hypercholesterolemie. Het bleek dat een gemiddelde dagelijkse inname gedurende 4 weken van 5,9 g β -glucan uit haverzemelen dat verwerkt was in brood en koekjes, geen statistisch significant effect had op het lipoproteïnenprofiel. Om de mogelijke effecten van voedselbereiding en de voedselmatrix nader te onderzoeken, werd in onze derde studie dezelfde bron en dagelijkse hoeveelheid tarwevezel (controlevezel) en haverzemelen als in onze tweede studie verstrekt met sinaasappelsap. Wij vonden dat de dagelijkse inname van 5 g β -glucan uit haverzemelen met een drank gedurende twee weken serum totaalcholesterol- en LDL cholesterolconcentraties en de totaalcholesterol/HDL cholesterol verhouding verlaagden bij 25 personen met respectievelijk 4, 7 en 5%. Op basis van deze bevindingen is gesuggereerd dat de voedselmatrix en/of voedselbereiding nadelige effecten hebben op de cholesterolverlagende werking van β -glucan uit haver.

Plasma vetoplosbare antioxidanten

Er bestaat enige bezorgdheid over de verlaging in antioxidantenconcentraties in plasma door de consumptie van plantaardige stanolesters. Er is echter nog weinig bekend over de effecten van andere cholesterolverlagende stoffen, zoals β -glucan uit haver en pravastatine. Daarom werden de vetoplosbare antioxidanten niet alleen in

onze derde studie met β -glucan uit haver bestudeerd, en ook in een studie met 48 vrijwilligers waarin plantaardige stanolesters werden genuttigd gedurende 4 weken, en in personen uit onze eerste studie die hetzij placebo of pravastatine kregen. Bij proefpersonen met een verhoogd cholesterolgehalte is aangetoond dat de concentraties van de tocoferolen (α -tocoferol, β + γ -tocoferol en δ -tocoferol) daalden door dagelijkse inname van 2 g plantaardige stanolen - welke werden aangeboden als hun vetzuuresters - en β -glucan uit haver. De hydrocarbon carotenoiden (lycopeen, α -caroteen en β -caroteen) daalden eveneens door het nuttigen van β -glucan uit haver (5 g/dag) met sinaasappelsap, zelfs nadat de concentraties van deze antioxidanten waren gecorrigeerd voor de hoeveelheid cholesterol plus triacylglycerol in het bloed. Na standaardisatie voor lipiden hadden plantaardige stanolen slechts kleine en niet-significante effecten op vetoplosbare antioxidanten. Na behandeling met pravastatine (40 mg/dag) daalden de concentraties van de tocoferolen, geoxygeneerde carotenoiden (luteïne en β -cryptoxanthine) en hydrocarbon carotenoiden. Echter na standaardisatie voor lipiden namen de tocoferolenconcentraties toe.

Hemostase en ontstekingsparameters

In onze eerste studie bleek dat zowel TRF-RBO als pravastatine geen effect had op de hoeveelheid tromboxaan B₂ (TxB₂) in gestold bloed, von Willebrand-Factor (vWF) en factor VII coagulant (factor VIIc) activiteit, en concentraties van geactiveerd factor VII (factor VIIa) en fibrinogeen bij personen met hypercholesterolemie.

Wat betreft de ontstekingsparameters als risicoindicatoren voor hart- en vaatziekten hebben wij de effecten van plantaardige stanolesters en pravastatine op C-reactief proteïne (CRP) en interleukine-6 (IL-6) concentraties onderzocht. Aangezien deze markers voor chronische ontsteking een afspiegeling zijn van het atherosclerotische proces, was onze hypothese dat cholesterolverlaging door plantaardige stanolesters of pravastatine gepaard zou gaan met verlaagde concentraties van CRP en IL-6. In onze eerste studie met personen die hetzij placebo of pravastatine kregen en in de studie met plantaardige stanolesters vonden wij echter dat na dagelijkse inname van 2 g plantaardige stanolen gedurende 4 weken of 40 mg pravastatine gedurende 6 weken CRP en IL-6 concentraties onveranderd bleven bij vrijwilligers met matig en sterk verhoogde cholesterolconcentraties, ondanks significante dalingen in LDL cholesterol van respectievelijk 8 en 32%. Verder werden bij de mensen uit deze studies cross-sectionele relaties bestudeerd tussen de concentraties van de ontstekingsmarkers en vetoplosbare antioxidanten. Hiervoor werden drie meervoudige regressiemodellen gebruikt om de verbanden te bestuderen van CRP

of IL-6 met respectievelijk de tocoferolen, geoxygeneerde carotenoïden en hydrocarbon carotenoïden. Na correctie voor de hoeveelheid LDL cholesterol, HDL cholesterol en triacylglycerol in het bloed bleek dat geen van de tocoferolen of carotenoïden significant gerelateerd was met CRP concentraties. Er werd echter een inverse relatie gevonden tussen de hydrocarbon carotenoïden met IL-6, terwijl de geoxygeneerde carotenoïden en de tocoferolen niet gerelateerd waren met IL-6. Verder bleek dat triacylglycerol positief geassocieerd was met CRP en dat HDL cholesterol invers gerelateerd was met IL-6.

Conclusies

Dit proefschrift laat zien dat een tocotriënen-rijke fractie uit rijstzemelenolie (TRF-RBO) geen gunstig effect heeft op het cholesterolmetabolisme en parameters betrokken bij hemostase bij personen met hypercholesterolemie. β -Glucan uit haver verlaagt het cholesterolgehalte bij mensen met matig en sterk verhoogde cholesterolconcentraties, wanneer deze genuttigd wordt met een drank maar niet wanneer deze verwerkt is in brood en koekjes. De voedselmatrix en/of voedselbereiding kan daarom nadelige effecten hebben op de cholesterolverlagende werking van β -glucan uit haver. Om de discrepantie in effecten beter te kunnen begrijpen, is het van belang meer inzicht te krijgen in het cholesterolverlagend mechanisme van β -glucan uit haver. Wat betreft de effecten van vetoplosbare antioxidanten, daalden de lipidengestandaardiseerde hydrocarbon carotenoïden na relatief hoge inname van β -glucan uit haver (5 g/dag) met vruchtensap, terwijl 2 g plantaardige stanolen per dag slechts geringe effecten hadden op lipidengestandaardiseerde antioxidanten bij mensen met een verhoogd cholesterolgehalte. Of onze resultaten ook gelden voor de inname van kleinere hoeveelheden of voor andere voedingsmiddelen verrijkt met β -glucan uit haver, dient verder onderzocht te worden. Andere risicoindicatoren voor hart- en vaatziekten, zoals de ontstekingsparameters CRP en IL-6, bleven onveranderd na kortdurige consumptie van plantaardige stanolesters of na behandeling met pravastatine bij milde en hypercholesterolemische personen, ondanks het feit dat het LDL cholesterolgehalte daalde. Het lange termijn effect op de concentraties van CRP en IL-6 in het bloed dient te worden bekeken.